

**Enzymhistochemische und autoradiographische
Untersuchungen während der Entwicklung
N-[4-(5-Nitro-2-Furyl)-2-Thiazolyl] -
formamid-induzierter Harnblasentumoren
der Ratte**

Sonnhild Broda

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. M. Eder

ENZYMHISTOCHEMISCHE UND AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
WÄHREND DER ENTWICKLUNG N-[4-(5-NITRO-2-FURYL)-2-THIAZOLYL]-
FORMAMID-INDUZIERTER HARNBLASENTUMOREN DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Sonnhild Broda
aus Herrlingen

München 1973



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. A. Schauer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. M. Eder
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	9. 10. 1973



Meiner Mutter gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. MATERIAL UND METHODIK	2
III. AUSWERTUNG DER AUTORADIOGRAPHISCHEN PRÄPARATE	4
IV. ERGEBNISSE	8
1. Mikroskopische Befunde	
2. Enzymhistochemische Befunde	
a) Alkalische Phosphatase	
b) NADH-Diaphorase	
c) Succinat-Dehydrogenase	
3. Autoradiographische Befunde	
V. DISKUSSION	18
1. Morphologie	
2. Enzymhistochemie	
3. Autoradiographie	
VI. ZUSAMMENFASSUNG	26
VII. LITERATURVERZEICHNIS	28

EINLEITUNG

Untersuchungen an der Rattenleber nach Applikation von Diäthylnitrosamin bzw. N-Nitrosomorpholin ergaben präcanceröse herdförmige Bezirke, die nach Gössner und Friedrich-Frekxa (1964) einen Verlust der Glucose-6-Phosphatase, nach Bannasch (1967) eine Speicherung von Glykogen und nach Schauer und Kunze (1966 und 1968) einen Verlust der Nucleosid-5'-Triphosphatasen, eine Steigerung der RNS-Synthese sowie ebenfalls eine Glykogenspeicherung aufwiesen.

An der Darmschleimhaut, einem Wechselgewebe, durchgeführte analoge enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen ließen bisher keine vergleichbaren präcancerösen Enzymdefekte erkennen (Schauer, Völlnagel und Wildanger 1969a; 1969b; Völlnagel, Wildanger und Schauer 1969).

Während der Induktion von Harnblasentumoren der Ratte mit Dibutylnitrosamin (Kunze, Schauer und Calvoer 1969; Kunze und Schauer 1971; Kunze, Schauer und Spielmann 1971) und Butylbutanolnitrosamin (Kunze, Schauer und Azami 1970; Schauer, Kunze, Krüsmann und Spielmann 1971) wurden am Urothel irreversible, präneoplastische Enzymausfallsbezirke der alkalischen Phosphatase festgestellt, die gegenüber dem umgebenden Urothel eine stark erhöhte Proliferationsaktivität zeigten. Analoge Enzymausfälle wurden unabhängig von Stiller und Rauscher (1971) bei Verwendung von Dibutylnitrosamin erhoben. Die vollentwickelten gut- und bösartigen Harnblasentumoren wiesen ebenfalls in der überwiegenden Mehrzahl einen Enzymverlust der alkalischen Phosphatase und gebietsweise eine starke Aktivitätsabschwächung der NADH-Diaphorase auf.

Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit war es, festzustellen, ob gleichwertige präneoplastische Enzymausfallsherde am Urothel der Harnblase auch nach Applikation von Cancerogenen auftreten, die eine chemisch andere Struktur als die bisher geprüften Nitrosamine aufweisen. Wäre es nachweisbar, daß die Enzymdefekte durch mehrere verschieden strukturierte Substanzen ausgelöst werden können, dürfte man annehmen, daß sie charakteristisch für die Initialphase der Tumorentwicklung in der Harnblase der Ratte sind.

Als neues Cancerogen bot sich für unsere vergleichenden Untersuchungen das N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-Formamid an, dessen tumorinduzierende Wirkung erstmalig von Ertürk et al. 1967 und 1969 beschrieben wurde. Es handelt sich hierbei um ein Nitrofuranderivat, dessen molekulare Basis des Cancerisierungsprozesses zwar noch nicht bekannt ist, bei dem aber vermutet wird, daß die 5-Nitrogruppe des Furanringes eine Hauptrolle spielt. (Ertürk et al. 1971).

MATERIAL UND METHODIK

21 weiblichen Wistar-Ratten (Inzuchtstamm des Pathologischen Institutes der Universität München) mit einem Ausgangsgewicht von 180-200 g wurde 0,188 % N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-Formamid (NFTF; Saber Laboratories, Morton grove, U.S.A.) in pulverisierter Altromin-Standard-Kost täglich verabreicht. Die Tiere wurden im klimatisierten Tierstall bei 20-22° C. in Makrolon-Käfigen frei von pathogenen Keimen gehalten.

Bei fortgeschrittener Versuchszeit zeigten die Tiere einen erheblichen Gewichtsverlust.

4 Tiere wurden nach kontinuierlicher Verabreichung von NFTF 75, 115, 120 und 130 Tage nach Versuchsbeginn, die übrigen Ratten nach 140-tägiger Gabe des Cancerogens am 155. (2 Tiere), 165. (2 Tiere), 170. (2 Tiere), 175., 185. (2 Tiere), 190., 200., 240., 245., 250., 260. und 275. (2 Tiere) Versuchstag nach 15-135-tägigem Stop der Cancerogenzufuhr getötet.

4 Ratten dienten als Kontrolltiere.

Die vergleichenden enzymhistochemischen Untersuchungen wurden an unfixierten 5 μ dicken Kryostatserienschnitten durchgeführt. Folgende Enzyme wurden geprüft: Alkalische Phosphatase (Stutte, 1967), Succinatdehydrogenase (Rosa und Tsou, 1961) und NADH-Diaphorase (Scarpelli, Hess und Pearse, 1958).

Die autoradiographischen Untersuchungen über den DNS-Stoffwechsel wurden mit H_3 -Thymidin (The Radiochemical Centre Amersham, England; spezifische Aktivität: 5 Ci/mMol; 0,1 mCi/100 g jeweils um 8.15 Uhr) durchgeführt. Die radioaktive Versuchszeit betrug 60 Minuten. Nach Tötung und sofortiger Herausnahme der Harnblasen wurden Kryostatserienschnitte der oben angegebenen Schnittdicke hergestellt, wobei alternierend ein Schnitt für die enzymhistochemischen Reaktionen bzw. für die Autoradiographie verwandt wurde. Parallel dazu wurden in Anlehnung an frühere Untersuchungen von Eder 1964 kombinierte Untersuchungen der Enzymaktivität der alkalischen Phosphatase und des H_3 -Thymidin-Einbaues in die DNS am gleichen histologischen Schnitt durchgeführt. Dadurch wurde eine exakte Zuordnung einzelner DNS-synthetisierender Zellen zu solchen mit oder ohne Enzymreaktion möglich.

Die Fixationsdauer in neutralisiertem 10 % Formalin bei 4° C. betrug 20 Minuten. Vor dem Aufbringen des Stripping-filmes Kodak AR 10 wurden die histologischen Schnitte mit einer Chromalaungelatinelösung (0,5 g Gelatine, 0,005 g

Chromalaun in 100 ml Aqua dest.) überzogen. Nach 9-12-tägiger Expositionszeit bei 4° C. wurden die Präparate 12 Minuten bei völliger Dunkelheit entwickelt (Entwickler: 7,2 g Natriumsulfit, 1,8 g Amidol, 3,2 ml 10 % Kaliumbromid auf 400 ml Aqua dest., 21° C.), 10 Minuten gewässert, 25 Minuten fixiert (Fixierbad: 300 g Natriumthiosulfat und 30 g Kaliummetabisulfit auf 1000 ml Aqua dest.) und anschließend wieder 30 Minuten gewässert. Dabei wich die Zusammensetzung des Fixans von dem früher angegebenen Gemisch ab (Schauer und Kunze 1968). Zuletzt erfolgte die Kernfärbung mit Hämalaun.

AUSWERTUNG DER AUTORADIOGRAPHISCHEN PRÄPARATE

Die quantitative Auswertung erfolgte sowohl an den autoradiographischen Präparaten als auch an solchen, an denen kombiniert die alkalische Phosphatase enzymhistochemisch und der H₃-Thymidin-Einbau autoradiographisch dargestellt wurde.

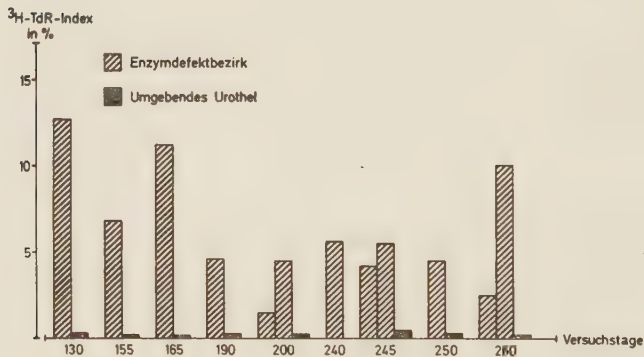
Der H₃-TdR-Index (in %) wurde in 11 nicht bzw. gering hyperplastischen Enzymdefektbezirken mit Verlust der alkalischen Phosphatase bestimmt. Im Vergleich dazu wurde die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen auch in dem umgebenden histologisch sowie histochemisch unveränderten Urothel des gleichen Schnittes festgestellt. Dabei wurde die Markierung am Gesamturothel und getrennt davon an den Basalzellen bzw. den darüber gelegenen Zellschichten ermittelt.

Die Zellzählungen wurden jeweils an 2-5 Schnitten vorgenommen. Im umgebenden Urothel wurden pro Tier 7.000-8.000 Zellen, bei Kontrolltieren pro Tier 20.000 Zellen gezählt.

In 4 Papillomen wurde der H_3 -TdR-Index in Bezirken bestimmt, die eine Aktivitätsabschwächung bzw. einen Verlust der NADH-Diaphorase aufwiesen und vergleichsweise dazu in benachbarten Bereichen des gleichen Tumors mit erhaltener Enzymaktivität.

Tabelle 1: H₃-TdR-Index der Kontrolltiere

	Gesamt- zellschicht	Basal- zellschicht	Übriges Urothel
1. Kontrolltier	0,25 %	0,51 %	0,00 %
2. Kontrolltier	0,15 %	0,32 %	0,00 %
3. Kontrolltier	0,17 %	0,32 %	0,00 %
4. Kontrolltier	0,15 %	0,31 %	0,02 %
Durchschnitts- werte	0,18 %	0,37 %	0,005 %



Vergleich des H₃-TdR-Index der Enzymdefektbezirke mit dem H₃-TdR-Index des umgebenden, enzymhaltigen Urothel. Am 200., 245. und 260. Versuchstag wurde der H₃-TdR-Index jeweils in 2 Enzymdefektbezirken ermittelt; am 240. Versuchstag konnte kein H₃-TdR-Index im umgebenden Urothel bestimmt werden

Tabelle 2: H_3 -TdR-Index der Basalzellen im Vergleich zu den oberen Zellschichten in den Enzymdefektbezirken der alkalischen Phosphatase bzw. im umgebenden, enzymhaltigen Urothel

Versuchstag	Enzymdefektbezirk H_3 -TdR-Index (%)			Enzymhaltiges Urothel H_3 -TdR-Index (%)		
	Gesamtzell- schicht	Basalzell- schicht	Übrige Zell- schichten	Gesamtzell- schicht	Basalzell- schicht	Übrige Zell- schichten
130	12,70	*	*	0,26	*	*
155	6,80	12,20	1,66	0,18	0,40	0,024
165	11,20	9,40	**	0,20	0,41	0,061
190	4,60	10,00	3,18	0,26	0,59	0,021
200	1,50	3,05	0,18	0,26	0,55	0,064
200	4,50	11,10	1,80	0,26	0,55	0,064
240	5,60	9,80	2,04	**	**	**
245	4,20	13,60	1,30	0,43	0,94	0,045
245	5,50	10,40	3,00	0,43	0,94	0,045
250	4,50	7,80	1,00	0,30	0,64	0,000
260	2,50	6,10	1,10	0,28	0,53	0,060
260	10,00	14,40	8,30	0,28	0,53	0,060
Durchschnitts- werte	6,14	9,8	2,36	0,29	0,61	0,04

* Keine Auszählung möglich, da teilweise keine Trennung der einzelnen Zellschichten möglich war

** Keine Auszählung möglich, da das den Enzymdefektbezirk umgebende Urothel bereits ebenfalls stark verändert war

ERGEBNISSE

1. Mikroskopische Befunde

Als erste histologisch erkennbare Veränderung traten am Urothel während der Cancerisierung der Harnblase durch NFTF scharf begrenzte, unterschiedlich stark ausgeprägte Hyperplasien auf, aus denen sich später papilläre Hyperplasien entwickelten. In fortgeschrittenen Stadien wiesen die papillären Hyperplasien alle Übergänge bis zu den vollentwickelten Harnblasenpapillomen auf. Die Urothelzellen in den hyperplastischen Abschnitten waren cytologisch im wesentlichen unauffällig und ließen keine Malignitätskriterien erkennen. Gelegentlich zeigten allerdings die Hyperplasien eine Plattenepithelmetaplasie mit deutlich sichtbaren Interzellularbrücken und z. T. mit hochgradigen Verhornungen.

Bei 16 der 21 Ratten wurden gut- und bösartige Tumoren nachgewiesen. Bei den gutartigen Geschwülsten handelte es sich um unterschiedlich große Papillome, die in der überwiegenden Mehrzahl eine Übergangsepitheldifferenzierung, nicht selten auch herdförmig eine Plattenepithelmetaplasie aufwiesen. Bei 9 Ratten wurden ausschließlich Papillome am 75., 155., 165. (2 Tiere), 170., 185., 200. und 275. (2 Tiere) Versuchstag nachgewiesen. Bei 7 Tieren fanden sich zusätzlich gut differenzierte Übergangsepithelcarcinome (120., 170., 175., 190., 240. und 260. Versuchstag). Eines dieser Übergangsepithelcarcinome wies einen Bezirk mit echten adenoiden Strukturen auf, die PAS-positives Material in den Lumina enthielten. Bei einem weiteren Versuchstier wurde nach 245 Tagen ein Plattenepithelcarcinom beobachtet. Bei allen 16 Tieren wurden jeweils mehrere, an verschiedenen Stellen der gleichen Harnblase lokalisierte Tumoren gefunden. Bei 5 Ratten traten weder Papillome noch Carcinome auf (115., 130., 155., 185. und 250. Versuchstag), wobei allerdings 4 Tiere hyperplas-

tische Urothelabschnitte aufwiesen und nur 1 Tier (115. Versuchstag) keinerlei Veränderungen zeigte.

Ein intraepitheliales Carcinom ~~in situ~~ wurde in einem Fall nach 200 Versuchstagen beobachtet.

2. Enzymhistochemische Befunde

a) Alkalische Phosphatase

Als Leitenzym für die vorliegenden Untersuchungen bot sich die alkalische Phosphatase an, deren Reaktionsniederschläge im Urothel der Harnblase von Kontrolltieren sehr intensiv sind. Die stärkste Reaktion fand sich in den apicalen Cytoplasmabereichen der Intermediärzellen. In den Superfizialzellen ließ sich in den basalen Anteilen des Cytoplasmas eine kräftige Enzymreaktion nachweisen, während die apicalen, lumenwärts gerichteten Bereiche negativ waren. Regelmäßig konnten auch einzelne Superfizialzellen oder Superfizialzellverbände mit negativer Enzymreaktion beobachtet werden. Bereits abgeschilferte Superfizialzellen reagierten stets negativ. Die angegebenen Lokalisationen geben lediglich eine Aussage über die Lage der Reaktionsniederschläge, wobei Diffusionsartefakte bei den schmalen Cytoplasmafortsätzen nach basal nicht auszuschließen sind.

Während der Cancerogenese wurden enzymhistochemisch als frühest faßbare Veränderung an normal breitem Urothel scharf umschriebene Abschnitte mit totalem Aktivitätsverlust der alkalischen Phosphatase nachgewiesen. Die Zellen dieser Enzymausfallsbezirke waren histologisch völlig unauffällig und unterschieden sich somit morphologisch nicht von dem benachbarten Urothel, das histochemisch keine Enzymverluste zeigte. Nekrosen wurden nicht beobachtet. Der erste derartige Enzymausfallsbe-

zirk wurde bei einem Tier gefunden, das 80 Tage lang kontinuierlich das Cancerogen erhalten hatte. Die Frage, ob die Ausfallsbezirke zu einem noch früheren Zeitpunkt der Cancerogenese auftreten, kann nicht beantwortet werden, da vor dem 80. Versuchstag keine Tiere untersucht wurden.

Nach längerer Versuchsdauer wurden oft mehrere Ausfallsherde - bis zu drei - an verschiedenen Stellen der Harnblase des gleichen Versuchstieres nachgewiesen. Da die Enzymdefektbezirke auch nach bis zu 135-tägiger Absetzung des Cancerogens beobachtet werden konnten, ist es wahrscheinlich, daß sie irreversibel und nicht toxisch bedingt sind.

Aus den Enzymausfallsbezirken in normal breitem Urothel entwickelten sich in einem weiteren Stadium unterschiedlich ausgeprägte Hyperplasien, die ebenfalls einen kompletten Aktivitätsverlust der alkalischen Phosphatase (Abb. 1 und 2) zeigten. Einschränkend muß gesagt werden, daß sehr selten hyperplastische Bezirke mit erhaltener Enzymaktivität festgestellt wurden.



Abb. 1: Mäßig hyperplastischer Urothelabschnitt mit vollständigem Verlust der alkalischen Phosphatase. Erhaltene Enzymaktivität im gegenüberliegenden Urothel (schwarz) und an den Kapillaren

Applikationsdauer von NFFT: 140 Tage

Gesamtversuchsdauer: 165 Tage

Vergrößerung: 75-fach



Abb. 2: Hochgradig hyperplastischer Urothelabschnitt mit vollständigem Verlust der alkalischen Phosphatase. Weitgehend erhaltene Enzymaktivität im umliegenden Urothel (schwarz)

Applikationsdauer von NFFT: 140 Tage

Gesamtversuchsdauer: 165 Tage

Vergrößerung: ca. 30-fach

Die Papillome zeigten in der überwiegenden Mehrzahl einen totalen Ausfall der alkalischen Phosphatase (Abb. 3). In Papillomen mit Übergangsepitheldifferenzierung wurden gelegentlich einzelne Zellen oder Zellgruppen mit erhaltener Aktivität der alkalischen Phosphatase beobachtet. Papillome, die eine Plattenepithelmetaplasie aufwiesen, zeigten immer einen vollständigen Enzymverlust. In einzelnen Papillomen war die Aktivität der alkalischen Phosphatase wie im Kontrollurothel unverändert stark vorhanden.

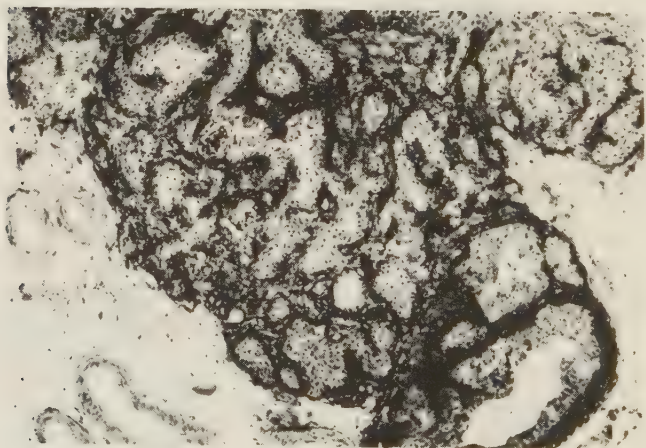


Abb. 3: Großes Papillom mit vollständigem Verlust der alkalischen Phosphatase. Erhaltene Enzymaktivität im reichlich entwickelten Stroma (schwarz)

Applikationsdauer von NFFF: 140 Tage

Gesamtversuchsdauer: 190 Tage

Vergrößerung: ca. 30-fach

Die Carcinome wiesen grundsätzlich das gleiche enzymhistochemische Verhalten wie die Papillome auf. Es wurde jedoch in keinem Fall ein Carcinom mit erhaltener Enzymaktivität gefunden. Eine Abhängigkeit des enzymhistochemischen Verhaltens vom Differenzierungsgrad des Carcinoms ließ sich nicht feststellen.

b) NADH-Tetrazoliumreduktase

Die NADH-Diaphorase zeigte in der Basal-, Intermediär- und Superfizialschicht des Urothels von Kontrolltieren jeweils etwa gleich starke Reaktionsniederschläge in Form blauschwarzer Formazangranula. Innerhalb des Cytoplasmas war eine Konzentrierung der Granula, vor allem perinucleär, zu beobachten.

In völliger Übereinstimmung mit dem Verlust der alkalischen Phosphatase in scharf umschriebenen Urothelabschnitten trat in etwa 2/3 der beobachteten Defektbezirke zusätzlich eine starke Aktivitätsabschwächung bzw. ein Verlust der NADH-Diaphorase auf.

Die Hyperplasien zeigten ebenfalls häufig eine starke Abschwächung der NADH-Diaphorase (Abb. 4). Analog zum Verhalten der alkalischen Phosphatase traten gelegentlich auch hyperplastische Bezirke mit erhaltener Enzymaktivität auf.

Das Verhalten der NADH-Tetrazoliumreduktase in den vollentwickelten gut- und bösartigen Tumoren war uneinheitlich. In der Mehrzahl der Papillome war die Enzymaktivität in Teilbereichen stark abgeschwächt bzw. nahezu ausgefallen. Seltener betraf der Aktivitätsverlust das gesamte Papillom. Die Papillome mit einer Plattenepithel-metaplasie zeigten stets einen Ausfall in sämtlichen Tumorteilen.

Die Übergangsepithelcarcinome wiesen wie die Papillome in der Mehrzahl in unterschiedlich großen Bezirken eine

starke Abschwächung der NADH-Diaphorase auf (Abb 5). In keinem Übergangsepithelcarcinom wurde jedoch eine Aktivitätsabschwächung im Gesamttumor festgestellt, im Gegensatz zu dem beobachteten Plattenepithelcarcinom, das in allen Bereichen einen nahezu vollständigen Enzymverlust erkennen ließ.

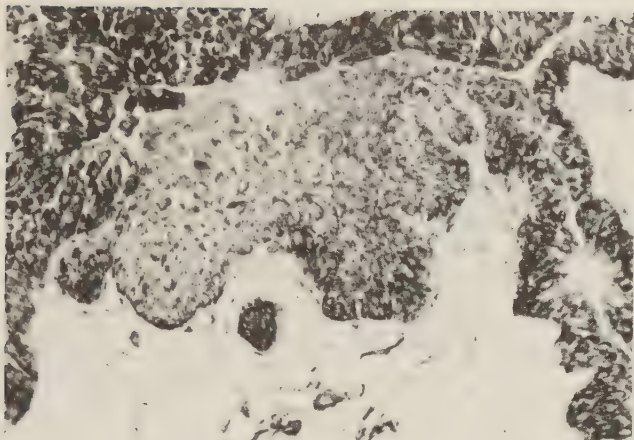


Abb. 4: Hyperplastischer Urothelabschnitt mit hochgradiger Aktivitätsabschwächung der NADH-Diaphorase
Applikationsdauer von NFTF: 75 Tage
Gesamtversuchsdauer: 75 Tage
Vergrößerung: 190-fach

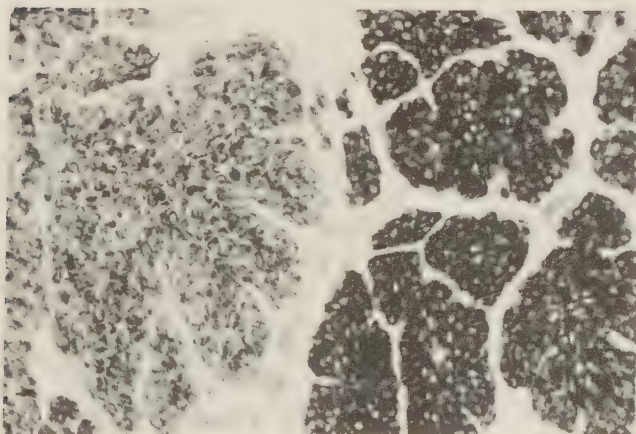


Abb. 5: Anteile eines Übergangsepithelcarcinoms mit teils erhaltener (links), teils stark abgeschwächter Enzymaktivität der NADH-Diaphorase
Applikationsdauer von NFTF: 140 Tage
Gesamtversuchsdauer: 245 Tage
Vergrößerung: 190-fach

c) Succinatdehydrogenase

Das Verteilungsmuster der in den Mitochondrien lokalisierten Succinatdehydrogenase war im Harnblasenepithel von Kontrolltieren nahezu identisch mit dem der NADH-Diaphorase.

In den scharf begrenzten Urothelabschnitten mit Aktivitätsverlust der alkalischen Phosphatase wurde gelegentlich eine starke Erhöhung der Succinatdehydrogenase beobachtet. Auch in einigen Papillomen und Carcinomen konnte in Teilbereichen eine Erhöhung des Enzymgehaltes der Succinatdehydrogenase nachgewiesen werden.

3. Autoradiographische Befunde

Der H_3 -TdR-Index bezogen auf alle Zellschichten des Urothels betrug bei Kontrolltieren im Mittel 0,18 % (Extremwerte zwischen 0,25 % und 0,15 %) (vergleiche Tab. 1). Nahezu alle markierten Zellen fanden sich bei einer radioaktiven Versuchszeit von 1 Stunde in der Basalzellschicht. Bei Auszählung ausschließlich der basalen markierten Zellen ergab sich ein H_3 -TdR-Index von durchschnittlich 0,37 %. Die darüber gelegene Intermediär- und Superfizialzellschicht hatte zusammen einen Markierungsindex von 0,005 % (vergleiche Tab. 1).

Im Unterschied zu der regenerativ relativ stabilen normalen Harnblasenschleimhaut wurde in den nicht oder nur gering hyperplastischen Enzymdefektbezirken mit Aktivitätsverlust der alkalischen Phosphatase eine starke Zunahme der Proliferationsaktivität nachgewiesen. In den insgesamt 12 ausgewerteten Defektbezirken kam es in allen Zellschichten des Urothels zusammen zu einer Steigerung des H_3 -TdR-Index auf das 21,2-fache im Vergleich zum umgebenden enzymhaltigen Urothel des gleichen histologischen Schnittes (Mittelwert

des H_3 -TdR-Index in den Enzymdefektbezirken 6,14 %, im umgebenden Urothel 0,29 % (vergleiche Tab. 2). Der höchste H_3 -TdR-Index wurde mit 11,2 % in einem Ausfallsbezirk nach 165 Versuchstagen ermittelt. Dieser Wert bedeutet eine Steigerung der Proliferationsaktivität auf das 62,2-fache gegenüber Kontrolltieren.

Bei getrennter Auszählung der markierten Zellen ergab sich in den Basalzellen der Enzymdefektbezirke ein H_3 -TdR-Index von 9,8 %, in den Intermediär- und Superfizialzellen von 2,36 % (vergleiche Tab. 2). Der Vergleichswert für das umgebende Urothel betrug 0,61 % (Basalzellen) bzw. 0,04 % (Intermediär- und Superfizialzellen). Daraus errechnet sich eine Steigerung des H_3 -TdR-Index der Basalzellen um das 16,1-fache. Bemerkenswert ist der hohe Anstieg des Markierungsindex in der Intermediär- und Superfizialzellschicht in den Enzymdefektbezirken. Im Vergleich zum umgebenden Urothel ist er im Durchschnitt um das 59-fache erhöht.

DISKUSSION

1. Morphologie

Ertürk und Mitarbeiter beschrieben 1967 erstmals das Auftreten von Harnblasentumoren nach oraler Applikation von NPTF in einer Konzentration von 0,188 % in der Nahrung. Die Autoren beobachteten dabei nach 46-wöchiger Verfütterung des Cancerogens und anschließender Absetzung für 17 Wochen nach einer Versuchsdauer von insgesamt 63 Wochen bei allen 29 überlebenden Sprague-Dawley-Ratten Carcinome. Die Carcinomtypen gliederten sich folgendermaßen auf: 8 Plattenepithelcarcinome, 7 Übergangsepithelcarcinome, 1 papilläres Übergangsepithelcarcinom und 13 Mischtypen aus Übergangsepithel- und Plattenepithelcarcinomen.

Im Unterschied zu diesen Ergebnissen wurden in der vorliegenden Arbeit bei gleich hoher Dosierung des Cancerogens wesentlich häufiger gutartige Papillome als Carcinome festgestellt. Die differenten Befunde können möglicherweise damit erklärt werden, daß verschiedene Rattenstämme als Versuchstiere dienten und in der vorliegenden Arbeit strengere Maßstäbe bei der Diagnose eines Carcinoms angelegt wurden. Ertürk bezeichnete z. B. Papillome mit geringer Atypie bereits als sessile Übergangsepithelcarcinome, während in dieser Arbeit nur dann von einem Carcinom gesprochen wurde, wenn histologisch ein eindeutiges infiltratives Wachstum nachweisbar war. Zudem sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihe statistisch nur eingeschränkt auswertbar, da das Tierkollektiv relativ klein ist und die Versuchstiere zu verschiedenen, z. T. sehr frühen Zeitpunkten getötet wurden.

Bei 5 der 21 Ratten ließen sich überhaupt keine Tumoren nachweisen. 4 dieser Tiere (130., 155., 185. und 250. Versuchstag) hatten jedoch z. T. hochgradige Urothelhyperpla-

sien, so daß angenommen werden kann, daß bei längeren Versuchszeiten bei diesen Tieren ebenfalls Tumoren entstanden wären. Lediglich 1 Ratte (115. Versuchstag) zeigte weder histochemisch noch histologisch irgendwelche neoplastischen Veränderungen.

Als früheste histologisch erfaßbare Veränderung während der Cancerogenese wurden Urothelhyperplasien beobachtet, die häufig an mehreren Stellen der gleichen Harnblase auftraten und die z. T. eine Plattenepithelmetaplasie aufwiesen. Ertürk und Mitarbeiter fanden diese Hyperplasien bereits nach 3 Wochen und nach 9 Wochen kontinuierlicher Cancerogenzufuhr gehäuft Plattenepithelmetaplasien. Umschriebene Urothelhyperplasien wurden auch nach Applikation anderer Harnblasen-wirksamer Cancerogene bei verschiedenen Tierspezies wie Ratte (Radomski 1967; Veenema, Fingerhut und Graff 1970; Kunze und Schauer 1971; Schauer, Kunze, Krüsmann und Spielmann 1971; Koss und Lavin 1971; Okajima et al. 1971), Maus (Bertram und Craig 1970; Levi et al. 1971), Hamster (Althoff, Krüger, Mohr und Schmähl 1971), Hund (Jabara 1963), und nach Infektionen mit Schistosoma haematobium auch beim Esel (Kuntz, Cheever und Myers 1972) regelmäßig nachgewiesen (ältere Literatur siehe Roe 1964 und Clayson, Lawson, Santana und Bonser 1965). Auch in der menschlichen Harnblase wurden wiederholt Hyperplasien als Vorstufen von Tumoren beobachtet (Eisenberg, Roth und Schweinsberg 1960; Allegra, Broderick und Corvese 1972).

Somit scheint die Hyperplasie ein wichtiges Stadium bei der Entstehung von Harnblasentumoren darzustellen. Die Hyperplasien können jedoch nur dann als präneoplastisch bezeichnet werden, wenn sie auch nach langer Absetzungsperiode irreversibel und nicht toxisch, entzündlich oder durch chronische Irritation (z. B. Implantation von Fremdkörpern) bedingt sind.

Eine weitere morphologische Veränderung von allgemeiner Bedeutung während der experimentellen Harnblasen-Cancerisierung ist die Plattenepithelmetaplasie. Nach Verabreichung von NFTF wurden häufig bereits in den hyperplastischen Urothelabschnitten, später auch herdförmig in den Papillomen, Plattenepithelmetaplasien nachgewiesen. Dies scheint nicht verwunderlich, da, wie elektronenoptische Untersuchungen ergeben haben, die Urothelzelle Tonofibrillen besitzt, die für die Plattenepithelzelle charakteristisch sind. Es ist anzunehmen, daß die beobachteten Plattenepithelcarcinome aus solchen zunächst gutartigen metaplastischen Herden entstehen. Ertürk und Mitarbeiter wiesen, wie oben schon ausgeführt wurde, nach 9 Wochen kontinuierlicher Cancerogenzufuhr gehäuft Plattenepithelmetaplasien und nach langen Induktionszeiten zahlreiche Plattenepithelcarcinome nach. In dieser Versuchsreihe wurde nach kurzer Einwirkungszeit des Cancerogens bei einem Tier ein Plattenepithelcarcinom diagnostiziert.

Die gleichen Beobachtungen machten wiederum viele Autoren nach Applikation anderer Harnblasencancerogene bei der Ratte (Druckrey, Preussmann, Schmähl und Müller 1962; Druckrey et al. 1964; Veenema, Fingerhut und Graff 1970; Kunze und Schauer 1971; Kunze, Schauer und Spielmann 1971; Kunze et al. unveröffentlicht; Koss und Lavin 1971; Okajima et al. 1971), Maus (Bertram und Craig 1970), Hamster (Althoff, Krüger, Mohr und Schmähl 1970), Meerschweinchen (Ivankovic und Bücheler 1968) und nach Infektion mit Schistosomen beim Esel (Kuntz, Cheever und Myers 1972). Bekannt ist auch der hohe Prozentsatz von Plattenepithelcarcinomen in der Harnblase des Menschen bei der Schistosomiasis (Ishak, Le Golvan und El-Sebai 1967).

Die in einem Carcinom nach 190 Versuchstagen nachgewiesenen herdförmigen adenoiden Strukturen, die auch Ertürk und Mitarbeiter beschrieben, waren eindeutig durch Nekrosen der

Zellen im Zentrum solider Carcinom-Zellnester entstanden. In einem nach 260 Versuchstagen beobachteten Übergangsepithelcarcinom fanden sich allerdings echte Drüsenstrukturen mit PAS-positiven Schleimsubstanzen in den Lumina. Darüberhinaus trat bei diesem Carcinom auch eine herdförmige monozelluläre Verschleimung auf. Analoge Befunde wurden auch in Butylbutanolnitrosamin-induzierten Harnblasentumoren erhoben (Schauer, Kunze, Krüsmann und Spielmann 1971).

2. Enzymhistochemie

Die hohe enzymhistochemisch nachweisbare Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Harnblasenschleimhaut der Ratte wurde eingehend bereits von Gomori (1941) beschrieben und in der Folge von zahlreichen Autoren bestätigt. Die gefundene Lokalisation der Reaktionsniederschläge stimmt weitgehend mit den Angaben anderer Autoren überein (Mende und Chambers 1956; Martin 1958; Leeson 1962). Über die spezielle physiologische Bedeutung dieses Enzyms im Urothel ist wenig bekannt.

Die alkalische Phosphatase erwies sich als Leitenzym besonders wertvoll, da während der Cancerogenese nach Applikation von NTF an histologisch unauffälligem Urothel irreversible scharf begrenzte Bezirke mit komplettem Verlust dieses Enzyms auftraten, aus denen sich später Harnblasentumoren entwickelten. Diese Enzymausfallsbezirke der alkalischen Phosphatase und der NADH-Diaphorase waren lichtoptisch die frühest faßbaren Veränderungen der durch NTF ausgelösten Cancerogenese. Sie waren nachweisbar, bevor das Urothel hyperplastisch wurde und die Urothelzellen Atypien aufwiesen. Somit ist es im Tierversuch möglich, noch vor Auftreten von Hyperplasien Abschnitte im Urothel zu bestimmen, die als Ausgangspunkt für das Wachstum von Tumoren anzusehen sind.

Daß die enzymdefekten Urothelabschnitte tatsächlich die Vorstufen der Tumoren sind, ergibt sich aus dem lückenlosen Nachweis verschiedener Übergangsstadien bis zu den vollausgebildeten Papillomen bzw. Carcinomen. Sie sind von besonderem Interesse, da sie auch nach Applikation der chemisch anders strukturierten Cancerogene Dibutylnitrosamin (Kunze und Schauer 1971; Kunze, Schauer und Spielmann 1971), Butylbutanolnitrosamin (Schauer, Kunze, Krüsmann und Spielmann 1971; Kunze et al. unveröffentlicht) und 4-Äthylensulphonylnaphthalen-1-Sulfonamid (Levi, Cowen und Cooper 1971) beobachtet wurden. Analoge Befunde wurden kürzlich von Stiller und Rauscher (1971) mitgeteilt. Diese Autoren fanden mit der histochemischen Nachweismethode von Burstone in den Frühstadien der durch Dibutylnitrosamin-induzierten Cancerogenese am Urothel der Ratte ebenfalls einen herdförmigen Aktivitätsverlust der alkalischen Phosphatase.

Da die beschriebenen Enzymverluste regelmäßig nach Einwirkung zweier differenter Cancerogentypen (Nitrosamine und NNTF) auftraten, kann vermutet werden, daß sie für die Initialphase der Tumorentwicklung der Ratte charakteristisch sind. Für die Endgültigkeit dieser Aussage wäre es allerdings notwendig, die Untersuchungen auch auf andere Cancerogene auszudehnen.

Das Vorkommen mehrerer solcher Enzymausfallsherde an verschiedenen Stellen der gleichen Blase spricht für eine multifokale Tumorentstehung, wie sie auch von zahlreichen anderen Autoren nach Verwendung verschiedener Cancerogene beschrieben wurde. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß diese Enzymverluste wegen ihrer Irreversibilität wahrscheinlich durch Veränderungen an den DNS-Molekülen und damit der Genexpression zustande kommen, nachdem insbesondere der Arbeitskreis von Magee und Craddock die alkylierende Wirkung - allerdings von Nitrosaminen - nachwiesen.

Es muß aber zukünftigen, vor allem biochemischen Untersuchungen vorbehalten bleiben, den Wirkungsmechanismus von NFTF aufzuklären. Bisherige Befunde deuten darauf hin, daß der am Furanring sitzenden Nitrogruppe für die Cancerogenität die entscheidende Bedeutung zuzuschreiben ist.

3. Autoradiographie

Als wichtigster proliferationskinetischer Befund ergab sich in den Urothelabschnitten mit Verlust der alkalischen Phosphatase ein starker Anstieg des H_3 -TdR-Index aller Zellschichten um das 21,2-fache im Vergleich zum umgebenden, regenerationsrelativ stabilen enzymhaltigen Urothel. Dieser Befund wurde aber nicht nur in den durch NFTF-induzierten Enzymdefektbezirken erhoben, sondern auch nach Applikation von Dibutylnitrosamin (Kunze, Schauer und Spielmann 1971) und Butylbutanolnitrosamin (Schauer, Kunze, Krüsmann und Spielmann 1971; Kunze et al. unveröffentlicht) nachgewiesen. Nach Verabreichung von Dibutylnitrosamin wurde außerdem in der Mehrzahl der Enzymdefektbezirke auch eine Erhöhung des H_3 -Cytidin-Einbaus auf das 2,5-4-fache im Vergleich zum umgehenden Urothel festgestellt (Kunze, Schauer und Spielmann 1971), ein Befund, der auch in präneoplastischen Enzymverlustherden der Nucleosid-5'-Triphosphatasen (z. B. ATP-ase) in der Leber nach Verabreichung von Dibutylnitrosamin auftrat. (Schauer und Kunze 1968).

Der H_3 -TdR-Index des umgebenden histologisch unauffälligen Urothels betrug 0,29 % und zeigte im Vergleich zu den Kontrolltieren mit einem Markierungsindex von 0,18 % nur eine geringgradige Steigerung. Messier und Leblond (1960) fanden bei Ratten einen H_3 -TdR-Index von 0,5 %, Schreiber, Cehlert und Kugler (1969) von 0,12 % und Locher und Cooper

(1970) von 0,2 %, Levi, Cowen und Cooper (1969) bei der Maus von 0,1 - 2,1 % und Campobasso und Berrino (1972) von 0,8 %.

Das rasche Einsetzen und das Ausmaß der Proliferationsaktivität lassen darauf schließen, daß nach vollzogener Zelltransformation und länger dauernder Latenzzeit die Entwicklung der Tumoren sehr schnell erfolgt. Die starke Steigerung der Proliferation ist fokal auf den präneoplastischen Bezirk der Harnblasenschleimhaut beschränkt, da das umgebende Urothel, das auch unter der Einwirkung des Cancerogens steht, nur einen sehr schwachen Anstieg des H_3 -TdR-Index zeigte.

Die hohe, herdförmige Steigerung der Proliferationsaktivität während der Cancerisierung steht in Übereinstimmung mit Arbeiten anderer Autoren, die bei verschiedenen Tierarten die Proliferationsfähigkeit der Urothelzelle bei der physiologischen Regeneration nach verschiedenen Stimulationsfaktoren wie Traumatisierung (Walker 1959; Veenema, Fingerhut und Graff 1970), artefizieller Dehnung (Martin 1972), Röntgenbestrahlung (Schreiber, Oehlert und Kugler 1969), Cyclophosphamid (Locher und Cooper 1970; Campobasso und Berrino 1972) oder 4-Äthylensulphonylnaphthalen-1-Sulfonamid (Levi, Cowen und Cooper 1969) untersuchten. Die hohe Regenerationsfähigkeit der Harnblase mit Wiederherstellung einer funktionstüchtigen Harnblase innerhalb kurzer Zeit ist weiterhin bei verschiedenen Tierarten, insbesondere beim Hund (Bohne, Osborn und Hettle 1955), und auch beim Menschen nach subtotaler Resektion bekannt (Zusammenfassung vergleiche Vahlensieck 1971).

Als besonders interessanter Befund ist hervorzuheben, daß in den Enzymausfallsherden proliferierende Zellen nicht nur in der Basalzellschicht, aus der sich normalerweise die Harnblasenschleimhaut regeneriert, auftreten, sondern auch in den darüber gelegenen Zellagen, der Intermediär- und Superfizialzellschicht vermehrt zu finden sind. Da markier-

te Zellen im Urothel von Kontrolltieren fast ausschließlich in der Basalzellschicht - (vergleiche Regele und Lunglmayr 1969) - und nur äußerst selten in der Intermediär- und Superfizialzellschicht auftreten und somit die Basalzellen als Indifferenzzone der normalen Harnblasenschleimhaut anzusehen sind, muß angenommen werden, daß während des Cancerisierungsvorganges die Regulationsmechanismen der Zellerneuerung gestört werden, wobei entweder die Basalzellen ihre Teilungsfähigkeit beibehalten oder aber die Intermediär- und Superfizialzellen ihre Fähigkeit zur Reproduktion erhalten.

Noch ausgeprägter manifestiert sich dieses Phänomen in den hyperplastischen Urothelabschnitten, in denen die überwiegende Anzahl der markierten Zellen nicht basal, sondern in den übrigen Zellschichten lokalisiert war. Dieser Effekt scheint allerdings nicht cancerogen-spezifisch zu sein, da auch nach Traumatisierung (Veenema, Fingerhut und Graff 1970) und toxischen Einwirkungen von 4-Äthylensulphonylnaphthalen-1-Sulfonamid (Levi, Cowen und Cooper 1969) eine, wenn auch nicht so starke Markierung in den oberflächlichen Zellagen nachweisbar war.

Das Zusammentreffen einer hohen Proliferationsaktivität in Papillomen mit einer starken Aktivitätsabschwächung der NADH-Diaphorase wurde auch an Butylbutanolnitrosamin-induzierten Tumoren gefunden. Darauf wurde bereits kurz aufmerksam gemacht (Schauer, Kunze, Krüsmann und Spielmann 1971). Die Deutung dieses Befundes ist schwierig, da die Funktion dieses histochemisch nachweisbaren Enzyms im Stoffwechsel und seine Bedeutung für die Proliferationsaktivität der Zelle weitgehend unbekannt ist. Eine Erklärungsmöglichkeit besteht jedoch darin, daß diese Herde bereits metaplastisch waren, ohne daß dies lichtoptisch erkennbar war und deshalb eine hohe Proliferationsaktivität zeigten. Diese Vermutung liegt nahe, da Plattenepithelien aus Urothelzellen grundsätzlich nur eine geringgradige

Aktivität der NADH-Diaphorase und stets einen hohen H_3 -TdR-Index aufwiesen.

ZUSAMMENFASSUNG

21 weiblichen Wistar-Ratten wurde N- 4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl -Formamid in einer Konzentration von 0,188 % in pulverisierter Altromin-Standard-Kost täglich verabreicht. Die Entwicklung von Harnblasentumoren wurde dabei mit enzymhistochemischen und autoradiographischen Methoden verfolgt.

Als früheste präneoplastische Veränderung wurden scharf begrenzte Urothelabschnitte mit Verlust der alkalischen Phosphatase beobachtet. In identischen Bezirken war gleichzeitig in einem hohen Prozentsatz die NADH-Diaphorase stark abgeschwächt.

Autoradiographisch konnte in den Enzymausfallsbezirken ein im Vergleich zum umgebenden enzymhaltigen Urothel um das 21,2-fache gesteigerte H_3 -TdR-Index festgestellt werden. Bei getrennter Auszählung der markierten Zellen ergab sich in den Basalzellen der Enzymdefektbezirke eine Steigerung des H_3 -TdR-Index um das 16,1-fache.

Aus den Enzymausfallsbezirken entwickelten sich Hyperplasien, die in späteren Versuchsstadien in Tumoren unterschiedlichen Differenzierungsgrades übergingen.

Auch die vollentwickelten Tumoren zeigten entweder im gesamten Tumorbereich oder in ausgedehnten Arealen einen Verlust der alkalischen Phosphatase.

Die vorgelegten Befunde entsprechen völlig den Frühveränderungen, die auch nach Applikation von Butylbutanolnitrosamin und Dibutylnitrosamin beobachtet wurden. So kann

vermutet werden, daß sie für die Initialphase der Tumorentwicklung am Urothel charakteristisch sind. Auf Grund dieser Merkmale ergibt sich somit ein günstiges Modell für eine detaillierte Untersuchung der Cancerogenese.

LITERATURVERZEICHNIS

ALLEGRA, S. R., BRODERICK, P. A. and CORVESE, N. L.:
Cytologic and histogenetic observations in well differentiated transitional cell carcinoma of bladder

The Journal of Urology 107, 777 (1972)

ALTHOFF, J., KRÜGER, F. W., MOHR, U. and SCHMAHL, D.:
Dibutylnitrosamine carcinogenesis in syrian golden and chinese hamsters

Proceedings of the Society for experimental biology and medicine 136, 168 (1971)

BANNASCH, P.: Nitrosamin-induzierte Glykogenese und Geschwulstbildung in der Rattenleber

Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, Göttingen 1967

BERTRAM, J. S. and CRAIG, A. W.: Induction of bladder tumours in mice with dibutylnitrosamine

The British Journal of Cancer 24, 352 (1970)

BOHNE, A. W., OSBORN, R. W. and HETTLE, : Regeneration of the urinary bladder in the dog following total cystectomy

Surg. Gynec. Obstetr. 100, 259 (1955)

CAMFORASSO, O. and BERRINO, F.: Early effects of cyclophosphamide on mouse bladder epithelium

Path. Microbiol. 38, 144 (1972)

CLAYSON, D. B. and COOPER, E. H.: Cancer of the urinary tract

Advances in Cancer Res. 13, 271 (1970)

CLAYSON, D. B., LAWSON, T. A., SANTANA, S. and BONSER, G. M.: Correlation between the chemical induction of hyperplasia and of malignancy in the bladder epithelium
British Journal of Cancer 19, 297 (1965)

DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., SCHMÄHL, D. und MÜLLER, M.:
Erzeugung von Blasenkrebs an Ratten mit N,N-Dibutylnitrosamin
Naturwissenschaften 49, 19 (1962)

DRUCKREY, H., IVANKOVIC, S., SCHMIDT, C. H., MENNEL, H. D. und STAHL, K. W.: Selektive Erzeugung von Blasenkrebs an Ratten durch Dibutyl- und N-Butyl-N-Butanol(4)-nitrosamin
Zeitschrift für Krebsforschung 66, 280 (1964)

EDER, M.: Zur Darstellung von Wachstum und Differenzierung durch gleichzeitige Autoradiographie mit H_3 -Thymidin und histochemische Enzymreaktionen
Naturwissenschaften 51, 339 (1964)

EISENBERG, R. B., ROTH, R. B. and SCHWEINSBERG, M. H.:
Bladder tumours and associated proliferative mucosal lesions
J. Urol. 84, 544 (1960)

ERTÜRK, E., PRICE, J. M., MORRIS, J. E., COHEN, S. M., LEITH, R. S., VON ESCH, A. M. and CROVETTI, A. J.: The production of carcinoma of the urinary bladder in rats by feeding N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-formamide
Cancer Research 27, 1998 (1967)

ERTÜRK, E., COHEN, S. M., PRICE, J. M. and BRYAN, G. T.:
Pathogenesis, histology and transplantability of urinary bladder carcinomas induced in albino rats by oral admini-

stration of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-formamide
Cancer Research 29, 2219 (1969)

ERTÜRK, E., MORRIS, J. E., COHEN, S. M., VON ESCH, A. M.,
CROVETTI, A. J., PRICE, J. M. and BRYAN, G. T.: Compara-
tive carcinogenicity of formic acid 2-[4-(5-nitro-2-fu-
ryl)-2-thiazolyl]hydrazide and related chemicals in the
rat

Journal of the National Cancer Institute 47, 437 (1971)

GOMORI, G.: The distribution of phosphatase in normal or-
gans and tissues

J. cell comp. Physiol. 17, 71 (1941)

GÖSSNER, W. und FRIEDRICH-FREKSA, H.: Histochemische Un-
tersuchungen über die Glucose-6-Phosphatase in der Ratten-
leber während der Kanzerisierung durch Nitrosamine

Zeitschrift für Naturforschung 19 b, 862 (1964)

ICHAK, K. G., LE GOLVAN, F. C. and EL-SZBAI : Malig-
nant bladder tumours associated with Schistosomiasis. A
gross and microscopic study

Bilharziosis (Mostofi, ed.) New York, Springer-Verlag, 1967

IVANKOVIC, S. und BÜCHELER, J.: Leber- und Blasen-Carci-
nome beim Meerschweinchen nach Di-n-butylnitrosamin

Zeitschrift für Krebsforschung 71, 183 (1968)

JABARA, A. G.: A comparison of the pathological effects of
2-Acetylaminofluorene, 4-Acetylaminobiphenyl and 2-Acetyl-
aminobiphenyl in the dog

Cancer Research 23, 921 (1963)

KOSS, L. G. and LAVIN, P.: Studies of experimental bladder carcinoma in Fischer 344 female rats. I. Induction of tumours with diet low in Vitamin B₆ containing N-2-Fluorenyl-acetamide after single dose of cyclophosphamide

Journal of the National Cancer Institute 46, 585 (1971)

KUNZE, E., SCHAUER, A. und CALVOER, R.: Zur Histochemie von Harnblasenpapillomen der Ratte induziert durch Dibutylnitrosamin

Naturwissenschaften 56, 639 (1969)

KUNZE, E., SCHAUER, A. und AZAMI, M. A.: Zur Histochemie Butyl-butanol-nitrosamin-induzierter Harnblasencarcinome

Naturwissenschaften 57, 310 (1970)

KUNZE, E. und SCHAUER, A.: Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen an Dibutylnitrosamin-induzierten Harnblasenpapillomen der Ratte

Zeitschrift für Krebsforschung 75, 146 (1971)

KUNZE, E., SCHAUER, A. und SPIELMANN, J.: Autoradiographische Untersuchungen über den RNS-Stoffwechsel während der Entwicklung von Dibutylnitrosamin-induzierten Harnblasentumoren der Ratte

Zeitschrift für Krebsforschung 76, 236 (1971)

KUNTZ, R. E., CHEEVER, A. W. and MYERS, B. J.: Proliferative epithelial lesions of the urinary bladder of nonhuman primates infected with schistosoma haematobium

Journal of the National Cancer Institute 48, 223 (1972)

LAVIN, P. and KOSS, L. G.: Studies of experimental bladder carcinoma in Fischer 344 female rats. II. Characterization of 3 cell lines derived from induced urinary bladder carcinomas

Journal of the National Cancer Institute 46, 579 (1971)

LEESON, C. R.: Histology, histochemistry and electron microscopy of the transitional epithelium of the rat urinary bladder, in response to induced physiological changes
Acta anatomica (Basel) 48, 97 (1962)

LEVI, P. E., COWEN, D. M. and COOPER, E. H.: Induction of cell proliferation in the mouse bladder by 4-ethylsulphonylnaphthalene-1-sulphonamide
Cell Tissue Kinet. 2, 249 (1969)

LEVI, P. E., KNOWLES, J. C. , COWEN, D. M., WOOD, M. and COOPER, E. H.: Disorganization of mouse bladder epithelium induced by 2-acetylaminofluorene and 4-ethylsulfonylnaphthalene-1-sulfonamide
Journal of the National Cancer Institute 46, 337 (1971)

LOCHER, G. W. and COOPER, E. H.: Repair of rat urinary bladder epithelium following injury by cyclophosphamide
Invest. Urol. 8, 116 (1970)

MARTIN, B. F.: Histological and histochemical studies on the bladder and ureter, with particular reference to alkaline phosphatase and golgi material
The Journal of Anatomy (London) 92, 286 (1958)

MENDE, T. J. and CHAMBERS, E. L.: Distribution of mucopolysaccharide and alkaline phosphatase in transitional epithelia
J. Histochem. cytochem. 5, 99 (1957)

MESSIER, B. and LEBLOND, C. P.: Cell proliferation and migration as revealed by radiography after injection of thymidine- H^3 into male rats and mice

American Journal of Anatomy 106, 247 (1960)

OKAJIMA, E., HIRAMATSU, T., MOTOMIYA, Y., IRIYA, K., IJUIN, M. and ITO, N.: Effect of DL-tryptophan on tumorigenesis in the urinary bladder and liver of rats treated with N-nitrosodibutylamine

Gann 62, 163 (1971)

OEHLERT, W. und BÜCHNER, Th.: Mechanismus und zeitlicher Ablauf der physiologischen Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel und in der Schleimhaut des Magen-Darmtraktes der weißen Maus

Beitr. path. Anat. 125, 374 (1961)

RADOMSKI, J. L., BRILL, E. and GLASS, E. M.: Induction of bladder tumours and other malignancies in rats with 2-methoxy-3-aminodibenzofuran

Journal of the National Cancer Institute 39, 1069 (1967)

REGELE, H. und LUNGLMAYR, G.: Zur Wachstumsdynamik des Übergangsepithels

Virchows Archiv Abt. P. Zellpathologie 2, 229 (1969)

ROE, F. J. C.: An illustrated classification of the proliferative and neoplastic changes in mouse bladder epithelium in response to prolonged irritation

British Journal of Urology 36, 238 (1964)

SCARPELLI, D. G., HESS, R. and PEARSE, A. G. E.: The cytochemical localization of oxidative enzymes. I. Diphosphopyridine nucleotide diaphorase and triphosphopyridine nucleotide

diaphorase

J. biophys. biochem. Cytol. 4, 747 (1958)

SCHAUER, A.: Histochemische und biochemische Untersuchungen bei der Cancerisierung mit Diäthylnitrosamin an der Rattenleber

Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie,
50. Tagung, Heidelberg 1966

SCHAUER, A. und KUNZE, E.: Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin

Zeitschrift für Krebsforschung 70, 252 (1968)

SCHAUER, A., VÖLLNAGEL, Th. und WILDANGER, F.: Morphologische und histochemische Untersuchungen bei der Cancerisierung der Darmschleimhaut der Ratte durch 1,2-Dimethylhydrazin

Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie,
53. Tagung, Mainz 1969

SCHAUER, A., VÖLLNAGEL, Th. und WILDANGER, F.: Cancerisierung des Rattendarmes durch 1,2-Dimethylhydrazin

Z. ges. exp. Med. 150, 87 (1969)

SCHAUER, A., KUNZE, E., KRUSMANN, G. und SPIELMANN, J.: Vergleichende enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen über das biologische Verhalten menschlicher und tierischer Harnblasentumoren

Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie,
55, 577 (1971)

SCHREIBER, H., OEHLERT, W. und KUGLER, K.: Regeneration und Proliferationskinetik des normalen und strahlengeschädigten

Urothels der Ratte

Virchows Archiv Abt. B, Zellpath. 4, 30 (1969)

STILLER, D. and RAUSCHER, H.: Irreversible preneoplastic defect in alkaline phosphatase in cancerization of transitional epithelium

Exp. Path. 5, 255 (1971)

STUTTE, H. J.: Hexazotiertes Triamino-Tritolyl-Methanchlorid (Neufuchsin) als Kupplungssalz in der Fermenthistochemie

Histochemie 8, 327 (1967)

VAHLENSIECK, W.: Zur sogenannten "Offenen Regeneration" nach subtotaler Harnblasenresektion bzw. Zytoprostatektomie
Zeitschrift für Urologie 64, 491 (1971)

VEENEMA, R. J., FINGERHUT, B. and GRAFF, S.: Nucleic acid synthesis in bladder tumours

Transactions of the American Association of Genito-Urinary Surgeons 62, 155 (1970)

VÖLLNAGEL, Th., WILDANGER, F. und SCHAUER, A.: Enzymhistochemische Untersuchungen am Rattendarm während der Cancerisierung durch 1,2-Dimethylhydrazin

Z. ges. exp. Med. 151, 208 (1969)

WALKER, B. E.: Radiographic observations on regeneration of transitional epithelium

Tex. Rep. Biol. Med. 17, 375 (1959)

Herrn Professor Dr. Schauer danke ich für die Überlassung des Themas, für seine Anleitung und für seine liebenswürdige Unterstützung.

Herrn Dr. Kunze möchte ich dafür danken, daß er mir stets mit Rat und Tat zur Verfügung stand.

Fräulein Calvoer, Frau Polt und Fräulein Vondraceck sei für die stets freundliche Zusammenarbeit gedankt.

LEBENS LAUF

Am 22.5.1944 wurde ich, Sonnhild Broda, als ältestes Kind des Steuerberaters Alois Broda und seiner Ehefrau Rita, geb. Niestroj, in Teschen/Oberschlesien geboren. Im Jahre 1946 wurden wir nach Herrlingen bei Ulm (Donau) ausgesiedelt, wo ich ab September 1950 die Volksschule besuchte. Im November 1958 starb mein Vater.

Von April 1954 bis April 1960 besuchte ich das Kath. Mädchengymnasium St. Hildegard in Ulm, von Mai 1960 bis Oktober 1961 die Wirtschaftsoberschule in Ulm und anschließend wieder das Kath. Mädchengymnasium St. Hildegard, an dem ich am 6. März 1963 die Reifeprüfung bestand.

Nach einem Semester Studium der Elektrotechnik am Oskar-von-Miller-Polytechnikum in München und 5 Semestern Physikstudium begann ich im Wintersemester 1966/67 Medizin zu studieren. Das Vorphysikum bestand ich im April 1967, das Physikum im April 1969. Am 26. Juni 1972 beendete ich mit der Gesamtnote sehr gut mein Medizinstudium.

Von Oktober 1972 bis Februar 1973 war ich Medizinalassistentin für Chirurgie an der Privatklinik Josefinum in München, von Februar 1973 bis Juli 1973 war ich Medizinalassistentin an der I. Medizinischen Universitätsklinik München, seit Juli 1973 bin ich als Medizinalassistentin an der II. Medizinischen Universitätsklinik München tätig. Am 1. Oktober 1973 werde ich die Approbation einreichen.

